

QUANTITATIVE UNTERSUCHUNGEN VON SERUMPROTEINEN
BEI CHRONISCHEN BRONCHITIKERN

vorgelegt von
Dr.rer.nat. Artur Koppe

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554401_0035

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr. med. Paul Schölmerich)

QUANTITATIVE UNTERSUCHUNGEN VON SERUMPROTEINEN

BEI CHRONISCHEN BRONCHITIKERN

Inauguraldissertation

zur Erlangung der

Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät der

Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Dr. rer. nat. Artur Koppe

aus Koblenz

Mainz 1971

DEKAN : Prof.Dr.med. Dr.med.dent. W.Ketterl

REFERENT : Prof.Dr.med. K.Ph. Bopp

KORREFERENT : Prof.Dr.med. P. Schölmerich

Tag der mündlichen Prüfung : 18.4.1972



gesamtherstellung
ditters bürodienst
mainz



K.K. und G.K. in Dankbarkeit und Liebe gewidmet

GLIEDERUNG

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. KRANKENGUT und UNTERSUCHUNGS-METHODIK	5
III. AUSWERTUNGSMETHODEN	10
IV. ERGEBNISSE	12
V. ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	19

I. EINLEITUNG

Durch empfindliche Analyseverfahren gelingt es heute, etwa 80 Proteine im menschlichen Plasma zu trennen und qualitativ bzw. quantitativ zu bestimmen.

Die Charakterisierung der einzelnen Serumproteine erfolgt dabei mit Hilfe von Elektrophorese (freie oder Zonenelektrophorese), durch die Agargeldiffusions-Methode, Gelpräzipitationstest mit Doppeldiffusion nach Ouchterlony, Immunelektrophorese und andere Methoden wie die Ultrazentrifugation, Säulenchromatografie über Ionenaustauschsäulen etc.

Die Funktion einiger Proteine ist bereits aufgeklärt. Damit ist die quantitative Bestimmung der Serumeiweiße mit spezifischen Untersuchungsmethoden in bestimmten Fällen für die Diagnose und Beurteilung von Krankheiten von großer Bedeutung. Normalerweise werden der Gesamtproteinspiegel als auch der Spiegel der einzelnen Proteinfraktionen im gesunden menschlichen Körper innerhalb einer physiologischen Schwankungsbreite, die jedoch eng begrenzt ist, konstant gehalten. Veränderungen der Zusammensetzung der einzelnen Eiweißfraktionen mit normalem oder pathologischem Gesamteiweiß-Spiegel werden als Pathoproteinämien bezeichnet. 3 Gruppen werden unterschieden: die Dysproteinämien, die Defekt- und die Paraproteinämien.

Bei den Dysproteinämien liegt eine Änderung der Relation der Eiweißfraktionen vor, besonders der Globuline zueinander. Diese Veränderungen können einzelne Proteine oder mehrere betreffen. So sinkt bei nephrotischem Syndrom der Gehalt an Albumin, Transferrin, IG_A , IG_G , bei gleichzeitiger Vermehrung von α_2 -Makroglobulin und beta-Lipoprotein. Bei malignen Erkrankungen findet sich eine Vermehrung von Caeruloplasmin und IG_G , dagegen ist der Transferrin-Spiegel erniedrigt. Dysproteinämien bestehen ebenfalls bei Lebererkrankungen und sind für die Beurteilung dieser Erkrankungen unendbehrlich geworden.

Unter Defektproteinämien werden vererbte bleibende Mangelzustände bestimmter Proteine zusammengefaßt. Die Defektproteinämien sind nicht nur von theoretischem Interesse etwa für den Genetiker, sondern korrelieren mit definierten klinischen Krankheitsbildern.

(Beispiel: Morbus Wilson)

Paraproteinämien sind nach Paraproteinen benannt, d.h. Serumproteine die sich von den normalen Proteinen durch ihre molekulare Primärstruktur Antigenität und Funktion unterscheiden. Sie sind bis heute nur als Varianten der normalen Immunglobuline nachgewiesen worden.

Zu den Paraproteinämien gehören die Makroglobulinämie Waldenström, viele Retikulo- sen, paraproteinämische Leukämien und alle Formen des Plasmozytoms.

Damit soll kurz skizziert werden sein, welche Bedeutung die Untersuchung des Plasmaprotein-Spiegels sowohl für die theoretische Medizin als auch für die Klinik in den letzten Jahren gewonnen hat. Im einzelnen ist die Funktion vieler zum Teil physiko- chemisch und chemisch bereits eingehend studierter Plasmaproteine hingegen noch weitgehend unbekannt. Das Erfassen quantitativer Variationen einzelner dieser Proteine bei Gesunden und bei Kranken könnte daher zur weiteren Abklärung ihrer biologischen Bedeutung beitragen.

Auch für den Pulmologen gewinnen quantitative Analysen von Serumproteinen zunehmend an Bedeutung. Anlaß für diese gesteigerte Aufmerksamkeit sind die Arbeiten von LAURELL, C.B. u. S. ERIKSSON, die 1963 erstmals einen α_1 -Antitrypsin- Defekt beschrieben. Dieser Proteindekt ist genetisch determiniert und wird autosomal-rezessiv vererbt. Bei homozygoten Individuen mit α_1 -antitrypsinmangel kommt es regelmäßig zur vorzeitigen Entwicklung eines Lungenemphysem, nicht selten auch zu gleichzeitigen bullösen pulmonalen Destruktionen. Liegt ein homozygoter α_1 -antitrypsinmangel vor, so findet sich im Serum des betreffenden Individuums nur noch eine Menge von 10% der Normalkonzentration dieses Proteins. Bei Heterozygoten besteht in der Regel eine Verminderung von 40-50%. Die klinischen Erscheinungen bei dem Vorkommen eines heterozygoten Erbganges sind noch nicht gesichert und werden derzeit noch diskutiert.

Theoretisch führt der α_1 -antitrypsin-Defekt zu einer Aufhebung des Trypsin und Chymotrypsin-Inhibitor-Effektes. Entsprechende klinisch faßbare Fehlregulationen in diesen Enzymsystemen wurden bisher jedoch nicht beobachtet, sodaß angenommen werden muß, daß im Serum außer der α_1 -antitrypsin noch andere Trypsin-Hemm- faktoren vorliegen müssen. Nach STEINBUCH u. Mitarbeitern ist ein solcher weiterer Inhibitor-Faktor an das α_2 -makroglobulin gebunden.

In den USA und desgleichen auch in anderen Ländern ist eine IG_E -Antikörper-Aktivität im Sputum von Patienten mit Asthma sowie in der Mukosa des respiratorischen Traktes nachgewiesen worden.

Bei unspezifischen Infektionen der Atemwege wird IG_A im Bronchialsekret der Atemwege nachgewiesen. Es wird submukös in den Plasmazellen gebildet und gelangt von dort an die Oberfläche der Bronchialmukosa. Dies ist einer der Faktoren, die zur Selbstreinigung des bronchopulmonalen Systems beitragen. In diesem Zusammenhang wäre auch die Theorie von LIEBERMANN u. Mitarbeitern zu erwähnen, die feststellen, daß bei Patienten mit homo- bzw. heterozygotem alpha-1-antitrypsinmangel auch ein Leukozytenprotease-Inhibitor-Defizit vorliegt. Im Rahmen ihrer Untersuchungen kamen die Autoren zu der Erkenntnis, daß im Rahmen eines alpha-1-antitrypsin-Defizits dieser bis zu einem gewissen Umfang von alpha-2-Makroglobulin ersetzt werden kann.

FRAGESTELLUNG :

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit quantitativen Bestimmungen von definierten Serumproteinen bei der chronisch unspezifischen Lungenerkrankung. Bei dieser handelt es sich um ein multifaktoriell bedingtes Leiden. Es gibt eine Vielzahl von krankmachenden Faktoren, deren Wirksamkeit im einzelnen unterschiedlich ist. In vielen Fällen jedoch dürfte die Konstitution von Bedeutung sein. Hierunter zu zählen sind die Fälle von chronischer Bronchitis bei A-Hypogammaglobulinämie ebenso bei Paraproteinämien siehe K.Ph. BOPP u. E. BAUERMANN 1968. Ebenso ist die familiäre Häufung bei der Mukoviszidose bekannt. Ein hochgradiges Lungenemphysem bei alpha-1-antitrypsinmangel wurde eingangs schon erwähnt.

Solchen praedisponierenden Faktoren nachzugehen, ist Anliegen dieser Arbeit.

BIOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG DER 5 UNTERSUCHTEN SERUMPROTEINE

Im einzelnen wurden folgende 5 Serumproteine quantitativ bestimmt: α_1 -Antitrypsin, α_1 -Antichymotrypsin, α_2 -Makroglobulin, C 1-Inactivator, Immunglobulin IG_G . Tabelle Nr. 1 zeigt Molekulargewicht, Peptidgehalt, Mittelwert, Variationsbreite und biologische Funktion dieser Proteine im Serum gesunder Erwachsener.

Klassifikation und Werte nach H.E. SCHULTZE u. J.E. HEREMANS aus:

Molecular Biology of Human Proteins I, Elsevier 1966.

Tabelle Nr. 1 PROTEINE DES MENSCHLICHEN BLUTPLASMAS

Protein:	Molekular- Gewicht	Peptid- Gehalt	Mittel- Wert	Variat.- Breite	biolog. Funktion
α_1 -Antitrypsin	54000	86%	290	200-400	Proteinase In- hibitor (Trypsin Chymotrypsin)
α_1 -Antichymotrypsin	68000	73%	50	40-60	Chymotrypsin- Inhibitor
C 1-Inactivator	0,8 $S_{20,W}$ = 3,7	57%	24	15-35	Inhibitor der C 1s Komponente
α_2 -Makroglobulin	820000	92%	240 290	150-350 175-420	Proteinase In- hibitor (Plasmin)
Immunglobulin IG_G	160000	97%	1250	800-1800	Antikörper Structur-Poly- morphismus GM, InV

II. KRANKENGUT und UNTERSUCHUNGSMETHODIK

Das Material vorliegender Untersuchung umfaßt 65 Patienten mit chronisch unspezifischer Bronchitis. Als Vergleichskollektiv standen die Seren von 27 Blutspendern aus der Transfusionszentrale der Univ. Kliniken Mainz zur Verfügung.

Die Patienten wurden nach den Leitlinien der Weltgesundheitsorganisation ausgesucht, wonach eine chronische Bronchitis vorliegt wenn: "present on most days during at least three months of each of two successive years".

Jugendliche Patienten sind grundsätzlich in unserem Material nicht vorhanden. Einmal ist die chronische Bronchitis eine Erkrankung die fast immer im Erwachsenenalter beginnt, zum anderen unterscheiden sich Jugendliche zum Teil hochsignifikant in ihrer Serumproteinkonzentration vom Erwachsenen.

Geschlechtsunterschiede sind beim α_2 -Makroglobulin von Bedeutung. Bei diesem Glycoprotein liegen Mittelwert und Variationsbreite der Serumkonzentration bei Frauen hochsignifikant höher als die entsprechenden Werte bei den männlichen Probanden.

Entsprechend den Angaben von ZÖLLNER besteht bei der chron. Bronchitis ein Geschlechtsverhältnis von 73%-27%, d.h. ein Quotient von 2,7. Die Angaben anderer Autoren liegen bei 2,1 - 2,8.

Unser Krankengut setzt sich aus 49 Männern und 16 Frauen zusammen. Diesem Zahlenverhältnis entspricht das Vergleichskollektiv von Gesunden mit 19 männlichen und 6 weiblichen Probanden.

Infolge der kleinen Fallzahl von Patienten konnten wir das Material nicht nach Geschlechtern gesondert auswerten. Diese Einschränkung ist aber nur im Falle der Bestimmung von α_2 -Makroglobulin von Bedeutung. In diesem Falle stand jedoch den 65 Patienten ein Vergleichskollektiv mit derselben Geschlechtskorrelation gegenüber.

Inwieweit Dauer und Temperatur der Lagerung die Konzentration von Glycoproteinen im Serum beeinflussen kann, hat Cleve untersucht. Eigene Untersuchungen an Seren die bei -20° gelagert waren und von 70 gesunden Blutspendern stammen, zeigen gegenüber einer Vergleichsgruppe aus 70 frischen Seren von Studenten keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Da es sich bei den 5 untersuchten Serumproteinen um Spureneiweiße handelt, welche im menschlichen Serum in relativ niedriger Konzentration vorliegen (mit Ausnahme des IG_G Globulin) wurde zu deren quantitativer Bestimmung als Mikromethode die einfache radiale Immundiffusionsmethode nach MANCINI et. al. gewählt.

Bei dieser Methode diffundiert das Protein Antigen von einer kleinen zylinderförmigen Auftragstelle aus radial in eine dünne Agarschicht hinein, in der ein entsprechendes präzipitierendes Antiserum gelöst ist. Im Laufe der Diffusion bildet sich ein Präzipitat um die Auftragstelle aus, dessen Durchmesser ein Maß für die Antigenkonzentration ist.

Der Diffusionskoeffizient des Antigens bestimmt zwar die zeitliche Periode, welches das Präzipitat benötigt um seine endgültige Anordnung zu erhalten, steht aber in keinem Zusammenhang mit dem Umfang des Gebietes, welches endgültig durch das Antigen eingenommen wird. Die Präzipitation ist nach 3 Tagen beendet.

Für unsere Untersuchungen wurden vorgefertigte Partigen-Immundiffusionsplatten der Behring-Werke Marburg/Lahn verwendet.

Um die Bezugskurven aufzustellen, wurden Eichlösungen (standard-Humanserum der Behring-Werke Marburg) in der Verdünnung 1:1, 1:2, 1:3 (entsprechend 0,5 ml serum, 0,5 ml Serum/0,5 ml physiologische NaCl, und 0,5 ml/1ml physiolog. NaCl) in die ersten 3 zylinderförmigen Auftragstellen eingebracht. Da Standard Humanserum stabilisiert keine standardisierte Konzentration für α_1 -Antichymotrypsin und C 1 Inactivator enthält, wurden in diesen Fällen als Eichlösung das Serum von 48 Normalpersonen (32 Blutspendern aus der Bluttransfusionszentrale der Univ. Kliniken Mainz und Studenten) verwendet.

Anschließend sind die Quadrate der entstehenden Ringdurchmesser auf lineares Millimeterpapier aufgetragen worden. Die Abszisse gibt die Antigenkonzentration in mg/100 ml Serum an, die Ordinate die Quadrate der entstehenden Ringdurchmesser, siehe Abb. Nr. 1.

Die Serumproben der zu untersuchenden Individuen haben wir im Verhältnis 1:3 (0,2 ml Serum/0,4 ml physiog. NaCl) verdünnt und jeweils 0,2 ml in die zylindrischen Auftragstellen eingebracht. Hierfür wurde eine Mikroliterspritze (Hamilton 7105) verwendet. Um die Genauigkeit der Arbeit zu überprüfen, wurde der Gehalt an β_2 -Glycoprotein (als repräsentatives Protein) 26 mal von Standard-Humanserum opus Nr. 286 bestimmt. Das Resultat zeigt Tabelle Nr. 2. Dieses Ergebnis erfüllt die Genauigkeit, die bei der vorliegenden Arbeit an die Methode zu stellen ist.

Eichkurve für α_1 -Antitrypsin

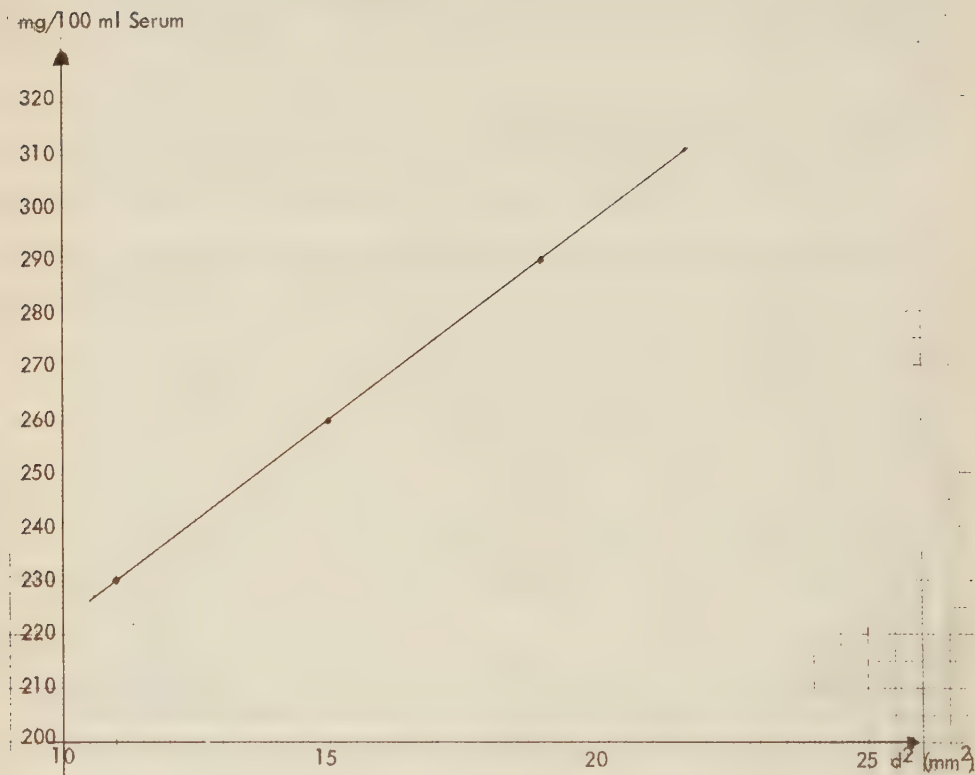


Tabelle Nr. 2

GENAUIGKEIT DER MESSMETHODE

Versuch Nr.	Einzelmessung x_i
1	14,1
2	14,3
3	14,2
4	14,1
5	14,5
6	14,2
7	14,4
8	14,3
9	13,7
10	14,0
11	14,5
12	13,5
13	14,1
14	14,8
15	14,3
16	13,5
17	13,7
18	14,7
19	14,4
20	14,4
21	14,6
22	14,0
23	14,2
24	13,2
25	14,2
26	14,5
	368,4

Mittelwert: $\bar{X} = 14,17$ $s = \pm 0,405$

III. AUSWERTUNGSMETHODEN

Zunächst wurden die 5 Serumproteine bei den 65 Patienten mit chronischer Bronchitis sowie den 27 Blutspendern der Vergleichsgruppe einzeln quantitativ bestimmt.

Da die Seren im Verhältnis 1 zu 2, 5, 40, mit physiologischer NaCl bei der Bestimmung verdünnt worden waren, mußten die Rohwerte mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden; dadurch gelangt man auf die Ausgangswerte zurück.

Um die Stichproben miteinander zu vergleichen, haben wir den U-Test nach WILCOXON MANN z. WITHNEY verwendet. "Dieser Test prüft die Nullhypothese: zwei unabhängige Stichproben entstammen der gleichen Grundgesamtheit, ihre Summen und Verteilungsfunktionen sind gleich ($F_1(x) = F_2(x)$). Diese Hypothese umfaßt auch die Gleichheit der zentralen Tendenz, d.h. insbesondere Gleichheit der Medianwerte, daneben auch Gleichheit der Mittelwerte." (SACHS L.)

Bei unserer Stichprobe kommen einzelne Werte mehrfach vor, deshalb haben wir die Korrektur für die Rangaufteilung verwendet.

Da in beiden Kollektiven die Fallzahl groß genug war, wurde die Prüfgröße Z an der Normalverteilung getestet.

Es wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit P für die zweiseitige Fragestellung zugrundegelegt, da wir über die Richtung des zu erwartenden Unterschieds zwischen Patienten und Kontrollgruppe im Vorher keine Aussage machen konnten.

Wir haben es unterlassen, ein bestimmtes Signifikanzniveau vor der Arbeit festzulegen, vielmehr uns beschieden, einfach das erreichte Signifikanzniveau anzugeben.

Außer dem Mittelwert $\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$ wurde die Standardabweichung der einzelnen Proteinklassen ermittelt. $(s = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}})$

Da es wünschenswert erscheint, etwas über die Abhängigkeit zwischen den einzelnen Proteinklassen zu erfahren, wurden Korrelations- und Regressionskoeffizienten errechnet.

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x}) (y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$

Ein Maß für den linearen Zusammenhang zwischen zwei Zufallsvariablen (hier den beiden Proteinklassen) ist der Korrelationskoeffizient. Er kann alle Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Werte mit -1 und +1 entsprechen dabei einer vollständigen Korrelation. Hierbei bedeuten positive Vorzeichen: große Werte y entsprechen im allgemeinen großen Werten x, x und y nehmen also gemeinsam zu oder ab = positive Korrelation. Bei negativen Vorzeichen korrelieren dagegen große Werte y im allgemeinen mit kleinen Werten x = negative Korrelation. Zwei Merkmale nennt man unkorreliert, wenn $r = 0$ ist, um so stärker korreliert, je näher r bei 1 liegt.

Der Regressionskoeffizient gibt schließlich an, um wieviel Maßeinheiten sich die Zielgröße y ändert, wenn sich die Einflußgröße x um eine Maßeinheit ändert.

Der Korrelationskoeffizient wurde anschließend auf Signifikanz geprüft. Als Irrtumswahrscheinlichkeit alpha haben wir 5% vorgegeben, und bei den entsprechenden $n - 2$ Freiheitsgraden diejenigen r-Werte ermittelt, welche diese 5% Grenze unterschreiten.

Die Korrelations- und damit auch die beiden Regressionskoeffizienten solcher Serumproteine unterscheiden sich signifikant von Null.

Um die Signifikanz des Korrelationskoeffizienten zu überprüfen, haben wir seine Verteilung durch die z Transformation nach R.A. FISHER approximativ normalisiert.

$\hat{z}$ wurde an Hand der Formel $\hat{z} = \frac{r}{\sqrt{n - 3}}$ errechnet. Die erhaltenen z-Werte wurden an der Normalverteilung für den zweiseitigen Test geprüft.

IV. ERGEBNISSE

Tabelle Nr. 3 zeigt die errechneten Mittelwerte und Standardabweichungen von 5 Proteinen, bestimmt im Serum der 65 chron. Bronchitiker, denen als Kontrollgruppe 27 Blutspender gegenüberstanden.

Wie abzulesen ist, weisen α_1 -Antitrypsin, α_1 -Antichymotrypsin, α_2 -Makroglobulin, C 1 Inaktivator und das Immunglobulin IG_G sowohl im Mittelwert wie bei der Standardabweichung deutliche Unterschiede auf.

In diesem Zusammenhang dürfte es, wie eingangs beschrieben, von Interesse sein, daß die vier erstgenannten Proteine funktionell auch eine Einheit bilden. Sie sind im Unterschied zu den übrigen Serumeiweißstoffen Enzyminhibitoren. Mit Ausnahme von C 1 Inaktivator und IG_G , hemmen sie Enzyme bei der Eiweißspaltung.

Wie aus der Tabelle weiterhin zu entnehmen ist, liegen Mittelwert sowie Standardabweichung bei den 65 chron. Bronchitikern teilweise höher bzw. niedriger als bei der Kontrollgruppe.

Läßt sich dieser Unterschied statistisch verifizieren? - Wir haben im U-Test nach WILCOXON et. al. folgende Werte gefunden, Tabelle Nr. 4.

Tabelle Nr. 4 U-TEST ZWISCHEN PATIENTEN UND NORMGRUPPE

Protein:	U_1	U_2	Prüfgröße Z	P
α_2 -Makroglobulin	1109,5	645	2	5%
Immunglobulin IG_G	607	1148	2,37	5%
α_1 -Antitrypsin	1120	636	2,1	5%
C 1 Inaktivator	536	1220	2,96	1%
α_1 -Antichymotrypsin	372	1382,5	4,4	0,1%

Tabelle Nr. 3

Vergleichende Ergebnisse in Mittelwert ($\bar{X}$) und einfacher Standardabweichung (s) bei Kontrollgruppe (K) = 27 Blutspender und Patientengruppe (P) = 65 chron. Bronchitiker

Protein:	K		P	
	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s
alpha ₁ -Antitrypsin	281	+ 13,3	256,3	+ 43,9
alpha ₁ -Antichymotrypsin	99,2	+ 15,7	115,9	+ 24,2
C 1 Inactivator	100,7	+ 9,2	116	+ 25,5
alpha ₂ -Makroglobulin	250	+ 52,4	227	+ 62,3
Immunglobulin IG _G	1164	+ 58,5	1344,7	+ 120

Die Ergebnisse der Tabelle Nr. 4 führen dazu, daß die 0-Hypothese, daß beide Stichproben der gleichen Grundgesamtheit entstammen und ihre Summen wie Verteilungsfunktionen gleich seien, abzulehnen ist. Nach Tabelle Nr. 3 lassen sich die 65 chron. Bronchitiker von den 27 Blutspendern wie folgend trennen:

Einen gegenüber der Kontrollgruppe erhöhten Serumspiegel zeigen die 65 chron. Bronchitiker bei den Proteinen alpha₁-Antichymotrypsin, C 1 Inactivator und bei dem Immunglobulin IG_G.

Die alpha₂-Makroglobulin- und alpha₁-Antitrypsin-Konzentration liegt dagegen bei den Bronchitikern niedriger als bei den Blutspendern.

Aus Tabelle Nr. 4 ist schließlich abzulesen, daß die eben aufgezählten Mittelwertsunterschiede zwischen Patienten und Normgruppe alle über dem 5%-Niveau gesichert sind.

Alpha₁-Antitrypsin, alpha₁-Antichymotrypsin, alpha₂-Makroglobulin, C 1 Inaktivator sowie Immunglobulin IG_G gehören chemisch alle in die Gruppe der Glycoproteine. Die beiden erstgenannten Proteine hemmen beide Chymotrypsin. Weitere Gemeinsamkeiten sind an verschiedenen Stellen schon erwähnt worden.

Auf Grund ähnlichem chemischen Aufbau und verwandter biologischer Funktion scheint es theoretisch durchaus denkbar, daß jeweils diese einzelnen Proteine auch bei der chron. Bronchitis einen typischen Zusammenhang aufweisen. Wir können also durchaus annehmen, daß die genannten Serumproteine sich in charakteristischer Weise und bestimmtem Grade in Beziehung zueinander verändern. Was zeigt somit die Berechnung des Korrelations- bzw. Regressionskoeffizienten ?

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind für die Kontrollgruppe in Tabelle Nr. 6, für die Patientengruppe in Tabelle Nr. 5 aufgeführt .

Korrelationskoeffizientenmatrix :

Tabelle Nr. 5 der Patientengruppe (n=65)

Protein :

alpha₂-Makroglobulin

Immunglobulin IG_G .1609

alpha₁-Antitrypsin -.3931 .0112

C 1 Inaktivator .0297 .1475 .1345

alpha₁-Antichymotrypsin -.2449 .1698 .3288 .3563

es bedeuten :

1 = alpha₂-Makroglobulin

2 = Immunglobulin IG_G

3 = alpha₁-Antitrypsin

4 = C 1 Inaktivator

5 = alpha₁-Antichymotrypsin

- = keine Signifikanz

++ = Signifikanzniveau 1%

+ = Signifikanzniveau 5%

Tabelle Nr. 6 der Kontrollgruppe (n = 27)

Protein :	1	2	3	4	5
alpha ₂ -Makroglobulin					
Immunglobulin IG _G	.2325 -				
alpha ₁ -Antitrypsin	.4044 +	-.0394 -			
C 1 Inactivator	-.3484 -	-.0619 -			
alpha ₁ -Antichymotrypsin	.4289 ++	-.1077 -	.0855 -		

In Tabelle 7 und 8 sind alle über dem 5%-Niveau signifikanten Korrelationen aufgeführt

Tabelle Nr. 7 Kontrollgruppe korreliert

alpha ₂ -Makroglobulin	+	mit alpha ₁ -Antitrypsin	.4044	5%
alpha ₂ -Makroglobulin	+	mit alpha ₁ -Antichymo- trypsin	.4289	5%
alpha ₁ -Antitrypsin	+	mit alpha ₁ -Antichymo- trypsin	.5819	0,27%

Tabelle Nr. 8 Patientengruppe korreliert

alpha ₂ -Makroglobulin	-	mit alpha ₁ -Antitrypsin	-.3931	0,1%
alpha ₂ -Makroglobulin	-	mit alpha ₁ -Antichymo- trypsin	.2449	5%
alpha ₁ -Antitrypsin	+	mit alpha ₁ -Antichymo- trypsin	.3288	1%
C 1 Inactivator	+	mit alpha ₁ -Antichymo- trypsin	.3563	1%

Regressionskoeffizientenmatrix:

Angegeben sind die Werte b = Steigerung oder Regressionskoeffizient der Beziehung :

$$y = a + bx \text{ bzw. } x = a + by$$

Patientengruppe : (n = 65)

Tabelle Nr. 9a ($y = a + bx$)

Protein:	1	2	3	4	5
α_2 -Makroglobulin					
Immunglobulin IG_G	.1278				
α_1 -Antitrypsin	-.3647	.0131			
C 1 Inactivator	.0319	.1994	.1557		
α_1 -Antichymotrypsin	-.2387	.2084	.3455	.3234	

Tabelle Nr. 9b ($x = a + by$)

Protein :	1	2	3	4	5
α_2 -Makroglobulin					
Immunglobulin IG_G	.2026				
α_1 -Antitrypsin	-.4238	.0096			
C 1 Inactivator	.0277	.1092	.1162		
α_1 -Antichymotrypsin	-.2513	.1384	.3130	.3925	

Kontrollgruppe : (n = 27)

Tabelle Nr. 10a (y = a + bx)

Protein :	1	2	3	4	5
alpha ₂ -Makroglobulin					
Immunglobulin IG _G	.1035				
alpha ₁ -Antitrypsin	.3264	-.0715			
C 1 Inactivator	-.2306	-.0921	.1212		
alpha ₁ -Antichymotrypsin	.2878	-.1623	.4836	-.0867	

Tabelle Nr. 10b (x = a + by)

Protein :	1	2	3	4	5
alpha ₂ -Makroglobulin					
Immunglobulin IG _G	.5221				
alpha ₁ - Antitrypsin	.5009	-.0218			
C 1 Inactivator	-.5263	-.0417	.1803		
alpha ₁ -Antichymotrypsin	.6393	-.0715	.7001	-.0843	

es bedeuten :

1 = alpha₂-Makroglobulin

2 = Immunglobulin IG_G

3 = alpha₁-Antitrypsin

4 = C 1 Inactivator

5 = alpha₁-Antichymotrypsin

Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten zeigen somit, daß α_1 -Antitrypsin mit α_1 -Antichymotrypsin in beiden Stichproben positiv korreliert: steigt bzw. fällt die Serumkonzentration einer dieser Proteine, so verhält sich das Andere ebenso. Die Korrelation α_2 -Makroglobulin mit α_1 -Antitrypsin bzw. α_1 -Antichymotrypsin verhält sich dagegen in beiden Gruppen diskordant.

Während sie in der Kontrollgruppe positiv miteinander korrelieren, besteht in der Patientengruppe der 65 chron. Bronchitiker eine negative Korrelation. Wenn α_2 -Makroglobulin fällt, steigt somit die Serumkonzentration von α_1 -Antitrypsin relativ gesehen, an (das gleiche gilt für α_1 -Antichymotrypsin).

Abschließend sind in Tabelle Nr. 9 und 10 die Regressionskoeffizienten der untersuchten 5 Serumproteine angegeben. Da beide Variablen (beide Proteine) Zufallsvariablen sein können, sind jeweils zwei Regressionen möglich: die Schätzung von y aus x und die von x aus y d.h. $y = a + b_x x$ bzw. $x = a + b_y y$.

Die signifikanten Korrelationen zeigen mithin folgende Regressionskoeffizienten in der Patientengruppe :

Tabelle Nr. 11 : Regressionskoeffizienten in der Patienten-Gruppe
(bei signifikanten Korrelationen)

Protein:	steigt	um eine Einheit	steigt/oder fällt	um Einheiten
α_2 -Makroglobulin			α_1 -Antitrypsin	0,36
α_2 -Makroglobulin			α_1 -Antichymotrypsin	0,24
α_1 -Antitrypsin			α_1 -Antichymotrypsin	0,34
α_1 -Antitrypsin			α_2 -Makroglobulin	0,42
α_1 -Antichymotrypsin			α_2 -Makroglobulin	0,25
α_1 -Antichymotrypsin			α_1 -Antitrypsin	0,31
α_1 -Antichymotrypsin			C 1 Inactivator	0,32
C 1 Inactivator			α_1 -Antichymotrypsin	0,39

V. ZUSAMMENFASSUNG und DISKUSSION

Mit Hilfe der radialen Immundiffusionstechnik nach MANCINI et. al. wurden 5 Serumproteine im Blut von 65 chronischen Bronchitikern aus der staatlichen Kur und Spezialklinik für Erkrankungen der Atmungsorgane in Bad Ems bestimmt, sowie von einer Gruppe von 27 Blutspendern der Transfusionszentrale der Universitätskliniken in Mainz, deren Geschlechterzusammensetzung der der 65 Patienten entsprach.

Das Untersuchungsmaterial setzt sich aus insgesamt 49 Männern und 16 Frauen zusammen. Das Durchschnittsalter der 27 Blutspender betrug 41 Jahre, das der Bronchitiker 53 Jahre.

Das zu untersuchende Serum war bei -10°C gefroren und nicht älter als zwei Monate. Als Standard wurde Humanserum der Behringwerke Marburg benutzt. Bestimmungen und Auswertungen wurden von ein und derselben Person vorgenommen.

Die 5 untersuchten Serumproteine sind: α_1 -Antitrypsin, α_1 -Antichymotrypsin, α_2 -Makroglobulin, C 1 Inaktivator und das Immunglobulin IG_G .

Der Serumspiegel von α_1 -Antitrypsin, α_1 -Antichymotrypsin, α_2 -Makroglobulin, C 1 Inaktivator und Immunglobulin IG_G erwies sich bei den Patienten signifikant verschieden von dem der Kontrollgruppe. Im weiteren Verlauf der statistischen Auswertung wurden deshalb diese 5 Serumproteine eingehender auf ihren wechselseitigen Zusammenhang hin analysiert.

Wir konnten mit unserer Arbeit zeigen, daß sich die Patientengruppe der 65 chronischen Bronchitiker in diesen Serumproteinen von der Kontrollgruppe der 27 Blutspender abgrenzen läßt.

Die Mittelwerte folgender Proteine zeigen dabei gegenüber der Normgruppe der 27 Blutspender ein verschiedenes Verhalten :

Protein :	Mittelwert gegenüber der Normgruppe :
α_1 -Antitrypsin	erniedrigt
α_1 -Antichymotrypsin	erhöht
C 1 Inactivator	erhöht
α_2 -Makroglobulin	erniedrigt
Immunglobulin IG _G	erhöht

Dieser Unterschied ist statistisch nach dem U-Test für die Proteine 1 - 3 auf dem 5%-Niveau gesichert, bei 4 über dem 1% und bei 5 über dem 0,1%-Niveau.

Auf Grund theoretischer Überlegungen besteht zwischen α_1 -Antitrypsin, α_1 -Antichymotrypsin, C 1 Inactivator und α_2 -Makroglobulin ein biologischer Zusammenhang: alle 4 genannten Proteine sind chemisch Glycoproteine, ihre biologische Funktion besteht darin Enzyme zu hemmen. α_1 -Antitrypsin wie α_1 -Antichymotrypsin hemmen Chymotrypsin.

Wir haben deshalb mit Hilfe des Korrelations- und Regressionskoeffizienten Art und Grad des formalen Zusammenhangs ermittelt. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten für Kontrollgruppe und Patientengruppe ist nachstehenden zwei Tabellen zu entnehmen.

Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten ergab für die :

Kontrollgruppe :

Serumprotein :	korreliert signifikant	Serumprotein :
α_2 -Makroglobulin	positiv mit	α_1 -Antitrypsin
α_2 -Makroglobulin	positiv mit	α_1 -Antichymotrypsin
α_1 -Antitrypsin	positiv mit	α_1 -Antichymotrypsin

Patientengruppe :

Serumprotein :	korreliert signifikant	Serumprotein :
alpha ₂ -Makroglobulin	negativ mit	alpha ₁ -Antitrypsin
alpha ₂ -Makroglobulin	negativ mit	alpha ₁ -Antichymotrypsin
alpha ₁ -Antitrypsin	positiv mit	alpha ₁ -Antichymotrypsin
C 1 Inaktivator	positiv mit	alpha ₁ -Antichymotrypsin

Auffällig ist das Ergebnis, daß in der Kontrollgruppe alpha₂-Makroglobulin positiv mit alpha₁-Antitrypsin korreliert (bzw. mit alpha₁-Antichymotrypsin), in der Patientengruppe hingegen negativ. Zu diskutieren wäre, ob hier ein kompensatorischer Mechanismus besteht, der dazu führt, daß wenn bei den untersuchten 65 chronischen Bronchitikern der alpha₁-Antitrypsinspiegel bzw. der Antichymotrypsingehalt im Blut abnimmt, kompensatorisch der Organismus relativ die alpha₂-Makroglobulinkonzentration erhöht, um die gestörte Homöostase wieder einzuregulieren. Diese Hypothese bedarf jedoch weiterer Untersuchungen. Jedoch bestätigen unsere Untersuchungen die Feststellungen von LIßBERMANN u. Mitarb., daß ein alpha₁-Antitrypsin Defizit bis zu einem gewissen Umfang von alpha₂-Makroglobulin ersetzt werden kann.

Zusammenfassend kann folgendes gesagt werden: unsere Untersuchungen bestätigen die Vermutung, daß bei der chron. Bronchitis bestimmten Serumproteinen eine wesentliche diagnostische Aufgabe zukommen kann.

Die beobachteten Veränderungen im Serumspiegel von: alpha₂-Makroglobulin, alpha₁-Antitrypsin, alpha₁-Antichymotrypsin, C 1 Inaktivator und dem Immunglobulin IG_G lassen diese 5 Proteine für weitere und eingehendere Untersuchungen als wichtig erscheinen.

Über die Ursache der beschriebenen Veränderungen, sowie den Grund der Umkehr der Relation zwischen einigen Proteinen in der Gruppe der Bronchitikern, können wir zu diesem Zeitpunkt Sicheres nicht aussagen. Denkbar sind drei Modellvorstellungen:

1. Die genannten 5 Proteine sind konstitutionell bei der chron. Bronchitis verändert.
2. Sie verändern sich erst im Verlauf der Erkrankung.
3. Es trifft beides zu.

Um die aufgeworfenen Fragen zu beantworten, sind weitere Untersuchungen, insbesondere Langzeitstudien notwendig.

LITERATURVERZEICHNIS

- | | |
|--|--|
| Backhaus, R. | Immunodiffusion und Immunelectrophorese
VEB G. Fischer Verlag, Jena (1967) |
| Becker, W., Schwick, H.G.
and Störko, K. | Immunologic Determination of Proteins
Found in Low Concentrations in Human Serum
Clinical Chemistry Vol. 15 No. 8 649, (1969) |
| Becker, W., W. Rapp,
H.G.Schwink, K. Störko | Methoden zur quantitativen Bestimmung von
Plasmaproteinen durch Immunpräzipitation
Zeitschrift klin. Chemie 6. 113 (1968) |
| Bonomo, L., Gillardi, U.,
Liso, V. | Proteins and immunoglobulins in the sputum of
chronic bronchitis patients
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 43 (10) 542 (1967) |
| Bopp, K.Ph. | Differentialdiagnose chronisch-bronchitischer
Syndrome
Chronischer Bronchitis F.K. Schattauer-Verlag
Stuttgart - New York (1969) |
| Cárson, R.K., Barman, M.L. | The familial occurence of chronic obstructive
pulmonary disease
Ann.int.Med. 63 1001 (1965) |
| Erikson, S. | Studies in alpha ₁ -antitrypsin deficiency
Acta med. scand. 177, Suppl. 432 (1965) |
| Geisler, L., Bachmann, G.W.
Nolte, D. | alpha ₁ -Antitrypsin und Lungenemphysem
Med. Welt (24) 1432 (1969) |
| Fitzpatrick, M. | Studies of human pulmonary connective tissue.
Chemical changes in structural proteins and emphysema
Amer. Rev. resp. Dis. 96 254 (1967) |
| Götz, H. | Immunchemische Differenzierung von alpha-Globulinen
und ihre differentialdiagnostische Bedeutung für
Klinik und Praxis.
Der Krankenhausarzt 42. 318, (1969) |
| Klemm, D. | Paraptoteinämische Erkrankungen
medizinische Klinik 64. 869 u. 873 (1969) |

- Kueppers, F., Briscoe, W.A. and A.E. Bearn Hereditary deficiency of serum α_1 -Antitrypsin
Science 146. 1678 - 1679 (1964)
- Laurell, C.B., Erikson, S. The electrophoretic alpha globulin pattern of serum
 α_1 -antitrypsin deficiency
Scand. J. clin. Lab. Invest. 15. 132 (1963)
- Liebermann, J. α_1 -Antitrypsinmangel als pathogener Faktor
Symposium Pasadena, Jan. 1971 zit. in Selectra 13.
1050 (1971)
- Mancini, G., Vaerman, J.P., Carbonara, A.O., Heremans, J.F. A single radial diffusion method for the immunological
quantitation of proteins
Prot. Biol. Fluids, Proc. X the Coll. Bruges (1963)
370 - 373 Amsterdam : Elsevier 1964
- Sachs, L. Statistische Auswertungsmethoden
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1970)
- Sandor, G., Kawerau E. Serum proteins in health and disease
Chapman and Hall Ltd., London (1966)
- Schneider, W. Seltene Paraproteine - Probleme der Proteindiagnostik
Deutsche Med. Wochenschrift 95. 1487 (1970)
- Schulze, H.E., Heremans, F. Molecular biology of human proteins I
Elsevier, Amsterdam (1966)
- Stoop, J.W., Zegers, B.J.M., P.C. Sander and R.E. Ballieux Serum immunoglobulin levels in healthy children and
adults
Clin. exp. Immunol. 4. 101 (1969)
- Suhs, R.H., Lepper, M.H. Antitrypsin Deficiency in Chronic Obstructive Lung
Disease
Lancet (7637) 71 (1970)
- Talamo, R.L., J.D. Blen-erhast, K.I. Austen Current concepts. Familial emphysema and α_1 -
Antitrypsin deficiency
New. Engl. J. Med. 275 1301 (1966)
- Welch, M.H., Reinecke, M.E., Hammarsten, J.F., Guenter, C.A. Antitrypsin Deficiency in Pulmonary Disease. The
significance of Intermediate Levels
Ann. Intern. Med. 71. No. 3 553 (1968)
- Wuhrmann, F., H.H. Märkli Dysproteinämien und Paraproteinämien
4. Auflage, Verlag Schwabe u. Co., Basel
Stuttgart (1968)

Herrn Prof. Dr. med. K.Ph. Bopp danke ich sehr für die Überlassung des Themas und die vielfältigen Unterstützungen und Anregungen während der Abfassung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 8.5.41 wurde ich als Sohn des Textilgroßhändlers Arthur Koppe in Koblenz geboren.

Februar 1963 machte ich am altsprachlichen Johannesgymnasium in Niederlahnstein das Abitur.

Es folgte ab Sommersemester 1963 das Studium der Humanmedizin an der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz.

Seit W.Semester 1965/66 in der Naturwissenschaftlichen Fakultät zweiteingeschrieben, studierte ich Anthropologie, Zoologie und Biochemie.

Im November 1968 schloß ich mein Medizinstudium mit dem Staatsexamen ab.

Am 16. Dez. 1969 Promotion zum Dr.rer.nat. über das Thema: "Untersuchung zur Genetik und Populationsgenetik des β_2 -Glycoprotein I Polymorphismus."

Nach der Zeit als Medizinalassistent an der Transfusionszentrale der Univ. Kliniken Mainz, der staatlichen Kur- u. Spezialklinik für Erkrankungen der Atmungsorgane Bad Ems, sowie auf der chirurgischen Abteilung der städtischen Krankenanstalten Kemperhof in Koblenz - am 7.7.71 Approbation als Arzt.

Ab 2.2.71 Ass.Arzt im psychiatrischen Krankenhaus Gießen.

Die vorliegende Dissertationsarbeit wurde von mir im Januar 1970 begonnen und im September 1971 zu Ende geführt.

